

CRIPTOCOCOSIS

ESTUDIO DE CATORCE CASOS CON DIAGNOSTICO COMPROBADO POR EL LABORATORIO

NELLY ORDOÑEZ,* ELIZABETH CASTAÑEDA,** MIGUEL GUZMAN,***

En un período de 4 años se diagnosticaron, por procedimientos de laboratorio 14 casos de meningitis por *Cryptococcus neoformans* y fue posible realizar el seguimiento serológico en 4 de ellos. La positividad de las pruebas cuando se realizaron en LCR fue de 75% para el examen directo, de 67% para el cultivo y de 84.6% para las dos pruebas en conjunto. Cuando se realizó la prueba de aglutinación del látex para determinación del antígeno de *C. neoformans* la positividad fue del 100% en LCR y del 83% en suero. Mediante inmunofluorescencia indirecta logramos demostrar anticuerpos en el 43% de los pacientes. El seguimiento clínico y serológico en tres pacientes y serológico en uno permitió corroborar el valor pronóstico de la prueba de aglutinación del látex.

La introducción de las técnicas inmunológicas en el estudio de las micosis sistémicas ha permitido realizar un diagnóstico más preciso y en algunos casos son procedimientos valiosos en el control de la evolución y en la formulación del pronóstico de estas entidades (1-4). Es así como en la infección por el *Cryptococcus neoformans*, micosis oportunista y sistémica, las técnicas actuales tienen una alta fidelidad diagnóstica, lo cual permitirá en el futuro establecer la verdadera incidencia de esta entidad en nuestro medio.

Según una revisión efectuada por Greer en 1977(5), en Colombia se habían informado

hasta esa fecha 53 casos de criptococosis: 38 diagnosticados por estudio anatomopatológico (5-15) y 15 por procedimientos del laboratorio de micología (5, 16-18). En un estudio posterior de 27 casos de meningitis subagudas y crónicas en adultos, Borrego y Betancur (19) dan cuenta de un nuevo caso diagnosticado por el laboratorio.

Entre 1975 y 1980 en el laboratorio del Instituto Nacional de Salud se han comprobado 14 casos de criptococosis mediante técnicas de examen directo, cultivo y pruebas serológicas y fue posible el seguimiento en 4 de ellos; el presente informe describe nuestros hallazgos.

MATERIALES Y METODOS

El estudio comprende 13 pacientes, remitidos por diferentes centros hospitalarios de Bogotá y uno por el Hospital de Villeta, Cundinamarca. Se recibió L.C.R. de 13 de ellos, del otro sangre y un lavado bronquial;

* Bióloga. Laboratorio de Micología. Grupo de Microbiología e Inmunología. Instituto Nacional de Salud.

** Microbióloga. M.Sc. Laboratorio de Micología. Grupo de Microbiología e Inmunología. Instituto Nacional de Salud.

*** M.D. M.Sc. Grupo de Microbiología e Inmunología. Instituto Nacional de Salud.

muestras de suero en 8, de orina en 5, de sangre en 1 y de esputo en otro caso.

Se empleó para examen directo la técnica tradicional de la observación en fresco con tinta china (20) y los cultivos se efectuaron en el medio de agar glucosado de Sabouraud, en cajas de Petri, con incubación a 28°C. La identificación del microorganismo se basó en la presencia de cápsula, la habilidad para utilizar la úrea y para crecer a 37°C y en los patrones de asimilación de azúcares en el medio de Wickerham modificado (21). Se emplearon pruebas serológicas para determinación de antígeno (22): aglutinación de partículas de latex en L.C.R. suero y orina; y para determinación de anticuerpos (22): aglutinación en tubo e inmunofluorescencia indirecta.

Solo en 3 pacientes se obtuvo el informe de la evolución clínica.

RESULTADOS

La figura 1 indica cronológicamente la identificación de los 14 casos, la tabla 1 su distribución según sexo, procedencia e Institución que lo remitió. El 57% fueron hombres y el 43% mujeres, con distribución etaria así: 10 pacientes (71.5%) entre 17 y 32 años y 4 (28.5%) entre 56 y 69 años.

La tabla 2 presenta los factores predisponentes y/o condiciones de base de los

pacientes. El 57.1% tenían algún factor predisponente o una condición de base, así: 3 (21.4%) Lupus eritematoso sistémico; 2 (14.3%) transplante de riñón; 2 (14.3%) antibioterapia y un caso (7.1%) había sido sometido a cirugía por adenocarcinoma de la vesícula. En 5 pacientes no se obtuvo este dato y el caso restante (7°. caso) no presentó condición de base o factor predisponente alguno.

TABLA 1 Distribución de 14 pacientes con criptococosis según sexo, procedencia e Institución que los remitió.

Paciente	Sexo	Procedencia	Institución
1	M	NR	H.M.C.
2	F	Cundinamarca	H.M.C.
3	M	Tolima	H.S.J.
4	F	Tolima	H.M.C.
5	M	NR	H.M.C.
6	M	Boyacá	I.N.
7	M	Cundinamarca	H.S. y H.S.J.D.
8	M	Meta	I.N.
9	F	Antioquia	H.M.C.
10	F	NR	H.M.C.
11	F	NR	H.M.C.
12	M	Santander	H.M.C.
13	M	Santander	H.M.C.
14	F	Huila	H.S.J.D.

NR	= No reportado
H.M.C.	= Hospital Militar Central
H.S.J.	= Hospital San José
I.N.	= Instituto Neurológico
H.S.	= Hospital Salazar (Villeta)
H.S.J.D.	= Hospital San Juan de Dios

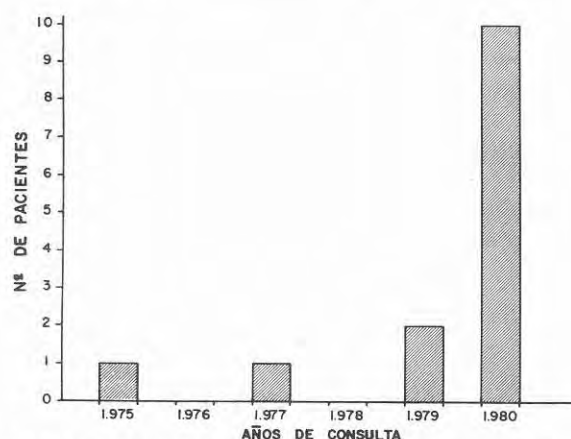


Fig. 1. Distribución de 14 pacientes con Criptococosis según el año del diagnóstico.

TABLA 2 Factores predisponentes o condición de base en 14 pacientes con criptococosis.

Condición de base Factor predisponente	Pacientes	
	No	%
Lupus eritematoso sistémico	3	21.4
Transplante de riñón	2	14.3
Antibioterapia	1	7.1
Derivación LCR (válvula)	1	7.1
Cirugía por adenocarcinoma	1	7.1
.....		
Sin dato	5	35.7
Enfermedad primaria	1	7.1

La tabla 3 resume nuestra escasa información clínica. La mitad de los casos hizo un síndrome de hipertensión endocraneana y todos presentaron la forma clínica meníngea con lesión pulmonar concomitante en solo un caso.

TABLA 3 Síntomas predominantes en 14 pacientes con criptococosis.

Síntoma	Pacientes	
	No	%
Cefalea	7	50.0
Fiebre	6	42.8
Confusión	6	42.8
Vómito	3	21.4
Cambios de conducta	3	21.4
Marcha inestable	3	21.4
Rigidez de nuca	2	14.3
Crisis convulsiva	2	14.3
Síndrome demencial	2	14.3

En la tabla 4 se presentan los resultados de los exámenes directos y cultivos de las diferentes muestras, en la 5 los resultados de la prueba de aglutinación de latex para la determinación del antígeno en 10 pacientes y en la 6 los resultados de las pruebas serológicas para determinación de anticuerpos en 8 pacientes.

El seguimiento por pruebas directas e indirectas solo se realizó en 4 pacientes. En la tabla 7 informamos los resultados de las pruebas directas y en las figuras 2, 3, 4 y 5 el seguimiento con la reacción de latex en L.C.R. y suero. La evolución clínica informada fue de franca mejoría.

TABLA 4 Resultados de los exámenes directos y cultivos.

Paciente	L.C.R.		Orina		Sangre		Otros*	
	directo	cultivo	directo	cultivo	directo	cultivo	directo	cultivo
1	+	-						
2	+	+						
3	NR	+						
4	+	+						
5					NR	+	-	-(1)
6	-	-						
7	+	+	-	-				
8	+	+	-	-				
9	-	-						
10	-	+	-	-				
11	+	-	+	+	NR	+		
12	+	+	-	-			+	+(2)
13	+	+						
14	+	NR						
Total	12	12	5	5		2	2	2
% (+)	75	67	20	20		100	50	50

* (1) lavado bronquial (2) esputo
NR = No realizado.

TABLA 5 Resultados de la prueba de aglutinación de latex para la detección de antígeno en 10 pacientes con criptococosis.

Paciente	Aglutinación de latex		
	L.C.R.	Suero	Orina
5	NR	+	NR
6	1:16	NR	NR
7	1:1024	1:128	--
8	1:1024	1:4	--
9	1:32	NR	NR
10	1:2	--	--
11	1:256	1:4096	1:512
12	1:4096	1:2048	--
13	1:8192	NR	NR
14	NR	1:2048	NR
Total	8	7	5
% (+)	100	85.7	20

NR = No realizado.

TABLA 6 Resultados de las pruebas serológicas de aglutinación en tubo e inmunofluorescencia indirecta.

Paciente	Prueba	
	A.T.	I.F.I
5	-	-
6	-	+
7	-	+
8	-	+
10	-	NR
11	-	-
12	-	-
14	-	-
Total	8	7
% (+)	0	43

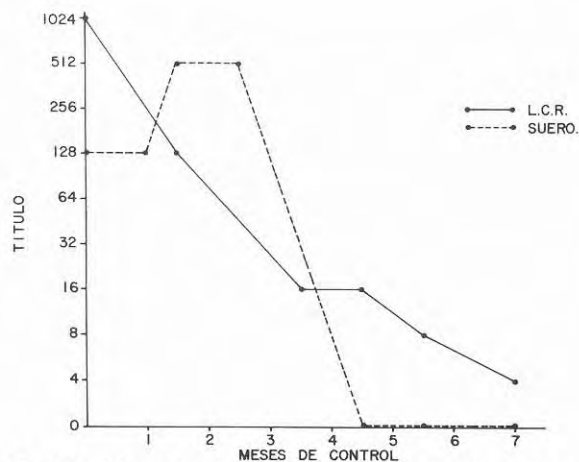


Fig. 2. Seguimiento del paciente N° 7 con la prueba de aglutinación del latex.

TABLA 7 Resultados de los controles de L.C.R. por examen directo y cultivo de los pacientes 7, 8, 10 y 12.

Paciente	Control (meses)	Examen Directo	Cultivo
7	m.i.	+	+
	1.5	+	-
	3.5	-	-
	4.5	-	-
	5.5	-	-
	7	-	-
8	9	-	-
	m.i.	+	+
	0.5	+	+
	1.5	+	-
	2	+	-
10	m.i.	-	+
	0.5	-	-
	1.5	-	-
	2.5	-	-
12	m.i.	+	+
	1	+	+
	2	-	-
	3	-	-
	4	-	-

m.i. = muestra inicial.

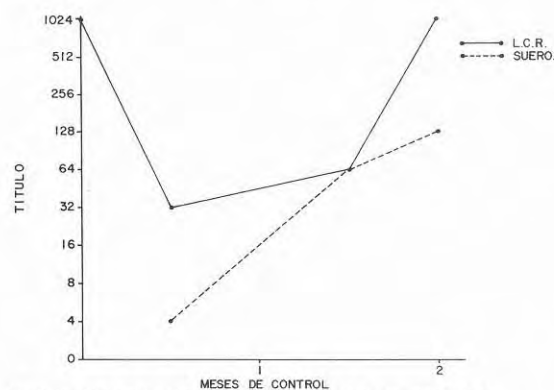


Fig. 3. Seguimiento del paciente N° 8 con la prueba de aglutinación del latex.

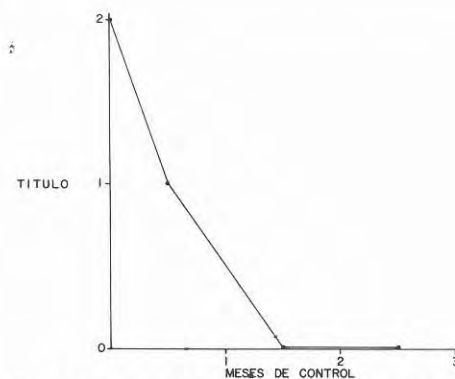


Fig. 4. Seguimiento del paciente N° 9 con la prueba de aglutinación del latex (L.C.R.)

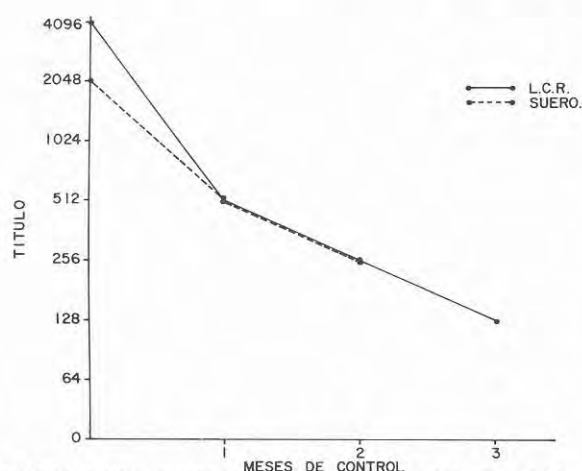


Fig. 5. Seguimiento del paciente Nº 12 con la prueba de aglutinación del latex.

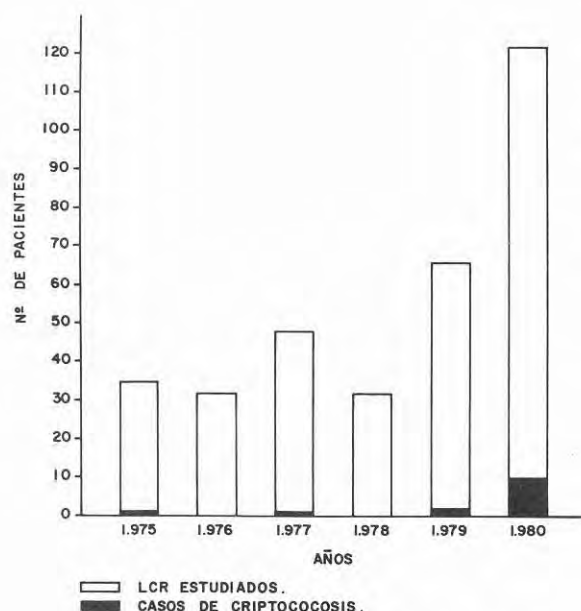


Fig. 6. Numero de muestras remitidas al laboratorio para investigación de criptococosis.

DISCUSION

El aumento en el número de casos de criptococosis diagnosticados en nuestro laboratorio a partir de 1975 señala seguramente el mejor conocimiento de la entidad y la disponibilidad de pruebas más sensibles para su diagnóstico, ya que, entre 1975 y

1980 el número de muestras remitidas para investigación de criptococosis ha tenido un incremento permanente (Fig. 6) y desde 1979 contamos con la prueba de aglutinación del latex que en conjunto con las pruebas directas detectan casi el 100% de los casos (22).

No fue notable la predilección por el sexo masculino y el 71.5% de los pacientes tenían entre 17-32 años lo cual como se sabe es clásico (5).

En relación con el aceptado carácter oportunista del *C. neoformans* (24), el 57.1% de 9 pacientes tenían un factor predisponente y/o condición de base. En solo un caso la criptococosis fue la enfermedad primaria. Las manifestaciones clínicas coinciden con lo observado previamente entre nosotros (5, 12, 18). Es interesante el caso con compromiso pulmonar manifiesto pues si bien el hongo se adquiere por inhalación la enfermedad pulmonar resultante es casi siempre asintomática (25).

El examen directo y el cultivo dieron una positividad del 84.6% cifra inferior a la informada por algunos autores (5) sin disminuir la importancia del muestreo del L.C.R. Subrayamos el valor de la prueba de aglutinación de latex, positiva en el 100% de los casos empleando el L.C.R. y en el 85.7% cuando se empleó suero. El valor de la reacción en orina es discutible dadas las frecuentes reacciones de aglutinación inespecíficas; sin embargo el número de muestras estudiadas en esta ocasión fue muy bajo y ello limita toda conclusión.

De las pruebas serológicas realizadas para la determinación de anticuerpos, la inmunofluorescencia indirecta presentó una positividad del 43% y la prueba de aglutinación en tubo contrariamente a lo esperado (22) no nos permitió demostrar anticuerpos en ningún paciente.

El seguimiento adecuado en tres pacientes y fragmentario en uno con las técnicas directas e indirectas permite estrecha correlación con la clínica; creemos que el último de estos casos (8°.) a juzgar por el laboratorio tenía mal pronóstico ya que el examen

directo en las diferentes muestras siempre reveló el *C. neoformans* y sus títulos de antígeno circulante eran muy altos tanto en el L.C.R. como en el suero (Fig. 3), cuando abandonó voluntariamente el hospital. En el 7°. paciente podemos observar que aunque el examen directo y el cultivo fueron negativos a partir de los tres meses y medio de control, solo a partir de los cuatro meses y medio desapareció el antígeno circulante en el suero y 7 meses más tarde todavía existía una pequeña cantidad circulando en el L.C.R.; esto nos señala la sensibilidad de la última prueba y su utilidad en el seguimiento del paciente.

Podemos señalar que el laboratorio hoy dispone de una serie de procedimientos que permiten hacer un diagnóstico y pronóstico correctos de la criptococosis, infección que por su carácter de oportunista debería ser considerada con mayor frecuencia.

SUMMARY

Fourteen clinical cases of meningitis due to *Cryptococcus neoformans* were studied and confirmed by means of different procedures in our laboratory over a period of four years. Positive results by direct examination of cerebrospinal fluid (CSF) were obtained in 75%; 67% were positive by cultures and 84.6% when both systems were performed simultaneously. When the latex agglutination test was performed to detect *C. neoformans* antigen, the test was positive in 100% of CSF and only 83.3% on serum. We were able to demonstrate serum antibodies only in 43% of the patients using indirect immunofluorescence. Clinical and serological follow up of three patients and serological in one, allowed us to confirm the usefulness of latex agglutination test in the clinical management of cryptococcosis.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a todos los médicos tratantes por la remisión de sus pacientes y a la Dra. Angela Restrepo y los Drs. Gabriel Toro y Gerzain Rodríguez por sus valiosos comentarios en la corrección del manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

1. Kaufman L. Current status of immunology for diagnosis and prognostic evaluation of Blastomycosis, Coccidioidomycosis, and Paracoccidioidomycosis. *Mycoses*. Pan American Health Organization. Publicación No. 304. 1975; pp137-143.
2. Gordon M. Current status of serology for diagnosis and prognostic evaluation of opportunistic fungus infections. *Mycoses*. Pan American Health Organization. Publicación No. 304. 1975; pp 144-151.
3. Palmer D. New techniques in the serology of mycotic infections. *Mycoses*. Pan American Health Organization. Publicación No. 304. 1975; pp 168-176.
4. Kaplan W. Practical application of fluorescent antibody procedures in Medical Mycology. *Mycoses*. Pan American Health Organization. Publicación No. 304. 1975 pp 178-186.
5. Greer D, Polanía L.A. Criptococosis en Colombia: Resumen de la literatura y presentación de doce casos en el Valle del Cauca. *Acta. Med. Valle*, 1977. 1977; 4: 160.
6. Lichtenberger E, Fajardo L. Un caso de criptococosis. *Instant. Med.* 1956; 21: 31.
7. Takano J, Cuello C, Hoffman E, Correa P. Estudio de lesiones residuales pulmonares. *Rev. Lat. Anat. Patol.* 1962; 6: 63.
8. López B H, Hurtado Ch, Correa G. Las Micosis profundas en el Hospital San Juan de Dios. *El Médico*. 1965; 10:20.
9. Peña C. Deep mycotic infections in Colombia. A clinico pathologic study of 162 casos. *Amer. J. Clin. Path.* 1967; 47:505.
10. Pedraza M. Mycotic infections at autopsy. A comparative study in two University Hospitals. *Amer. J. Clin. Path.* 1969; 51:470.
11. Vergara I, Saravia J, Toro G, Román G, Navarro L. Meningitis del adulto. Revisión clínica y patológica de 400 casos. *Rev. Fac. Med. U. N. Colombia*. 1971; 37:321.
12. Toro G, Saravia J, Vergara I, Sanín L H, Rodríguez G. Criptococosis del sistema nervioso central. Revisión del tema y estudio de 7 casos. *Rev. Fac. Med. U. N. Colombia*. 1973; 39:1.

CRIPTOCOCOSIS — ESTUDIO DE CATORCE CASOS CON DIAGNOSTICO COMPROBADO....

13. Díaz G. Criptococosis en Santander. Trib. Med. 1975; 52A13.
14. López F, Bedoya V. Criptococosis. Presentación de un caso. Ant. Med. 1966; 16:867.
15. Tobón D. Torulosis. Presentación de un caso de autopsia. Rev. H.S. J.D. (Armenia). 1966; 4:10.
16. Buitrago G, Gómez A. Comprobación de un caso de criptococosis. Caldas Médico. 1960; 1:5.
17. Jaramillo J. Torulosis meningoencefálica en la infancia. Presentación de un caso tratado exitosamente con Anfotericina B. Rev. H. S. J. D. (Armenia). 1966; 4:15.
18. Uribe P, Restrepo A, Díaz G. Estudio prospectivo clínico y microbiológico de las meningitis subagudas y crónicas. Ant. Med. 1973; 23:153.
19. Borrego C, Betancur S. Meningitis subagudas y crónicas en adultos. Estudio prospectivo de 27 casos. Trib. Méd. 1980; 62 (8):29.
20. Haley L, Callaway C. Laboratory methods in Medical Mycology. 1978; pp 112. HEW Publication No. (CDC) 78-8361.
21. Adams E D, Cooper B H. Evaluation of a Modified Wickerham Medium for Identifying Medically important yeasts. Amer. J. Med. Techno. 1974; 40:377.
22. Palmer D, Kaufman L, Kaplan W, Cavallaro J. Serodiagnosis of Mycotic diseases. Charles C. Thomas. Springfield. Illi. 1977; pp 76-106.
23. Kaufman L, Blumer S. Cryptococosis: The black and white yeasts. Pan American Health Organization. Publicación No. 356. 1978; pp 176-182.
24. Rippon J.W. Medical mycology. Saunders C. Philadelphia. 1974; pp 205-223.
25. Gordon M. The epidemiology of cryptococosis. En the epidemiology of human mycotic diseases. Al-Doory Y (ed). 1975; pp 142-151. Charles C Thomas. Springfield. Illi.